

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-004921

(43)Date of publication of application : 13.01.1998

(51)Int.Cl.

A23L 1/305

A23J 3/10

A23J 3/16

A23L 1/304

A23L 2/52

A23L 2/38

(21)Application number : 08-184253

(71)Applicant : AJINOMOTO CO INC

(22)Date of filing : 26.06.1996

(72)Inventor : KASAI TAKANORI

NIO NORIKI

SAWA AKIKO

## (54) MINERAL SOLUBILIZING MATERIAL

## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a mineral solubilizing material useful for a food, a medicine, etc., such as a protein enriched beverage, etc., capable of improving solubility of solutions in the whole pH range and exceeding in mineral solubilizing ability, comprising a protein treated by ozone as an active ingredient.

SOLUTION: An aqueous solution of a protein such as a protein separated from soybeans is oxidized by passing an ozone gas at normal temperature under normal pressure to give the objective mineral solubilizing material comprising the protein, in which an aromatic amino acid residue in the protein is converted into an aspartic acid residue while maintaining polymer properties, as an active ingredient. A beverage is produced by using preferably 0.1-5wt.% of the mineral solubilizing material.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

17.12.2002

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

3458606

[Date of registration]

08.08.2003

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-4921

(43) 公開日 平成10年(1998) 1月13日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	片内整理番号	F I	技術表示箇所
A 2 3 L	1/305		A 2 3 L	1/305
A 2 3 J	3/10		A 2 3 J	3/10
	3/16			3/16
A 2 3 L	1/304		A 2 3 L	1/304
	2/52			2/38
				B
審査請求 未請求 請求項の数 2 F D (全 6 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願平8-184253

(22) 出願日 平成8年(1996) 6月26日

(71) 出願人 000000066

味の素株式会社

東京都中央区京橋1丁目15番1号

(72) 発明者 葛西 隆則

北海道札幌市豊平区西岡3条8丁目2-11

(72) 発明者 丹尾 式希

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社食品総合研究所内

(72) 発明者 澤 晶子

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社食品総合研究所内

(74) 代理人 弁理士 久保田 藤郎 (外1名)

(54) 【発明の名称】 ミネラル可溶化素材

(57) 【要約】

【課題】 タンパク質にミネラル可溶化能を付与すると共に、酸性領域を含めた全pH領域で高い溶解性を有するタンパク質を提供すること。

【解決手段】 オゾン処理したタンパク質を有効成分として含有するミネラル可溶化素材並びに該素材を含有する飲料。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 オゾン処理したタンパク質を有効成分として含有するミネラル可溶化素材。

【請求項2】 請求項1記載のミネラル可溶化素材を含有する飲料。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はミネラル可溶化素材に関する。更に詳しくは、タンパク質をオゾンで処理して酸化したオゾン処理タンパク質を有効成分として含有するミネラル可溶化素材とそれを含有する飲料に関する。

## 【0002】

【従来の技術】生体を構成するミネラルは、約20種存在することが知られている。これらのうち、カルシウム、鉄、亜鉛、銅、マグネシウムなどは、日本人の食生活において不足しがちで、栄養上問題視されている。特に、カルシウムと鉄の摂取不足が指摘されており、社会的な関心事にもなっている。カルシウムの場合、成人1日の所要量は600mgであるのに対し、国民1人あたりの摂取量は541mg（平成3年国民栄養調査）で、前記所要量をやや下回っている程度である。しかし、カルシウムは、その吸収率の低さが原因となってカルシウム不足を招いている。特に、高齢者において、高頻度に発症する骨粗鬆症の主たる要因は、カルシウムの摂取と排泄のバランスが乱れることにあると考えられている。この疾病は、閉経後の女性に多く発症し、女性ホルモン（エストロゲン）の分泌が著しく低下し、小腸からのカルシウムの吸収率が低下することが原因の一つとなっている。このような骨粗鬆症の患者は年々増加しており、西暦2000年には534万人に達すると予測され、抜本的な対策が急がれている。

【0003】一般にミネラルが吸収されるには可溶性の状態で小腸管腔内に存在することが必要とされている。カルシウムの場合、小腸上部でのビタミンDや各種ホルモンの調節により制御されているカルシウムが濃度勾配に逆らって吸収される能動輸送の経路と、小腸下部でのカルシウム濃度勾配に従って吸収される受動輸送の経路の2通りがある。食物摂取時のような腸管内にカルシウムが多量に存在する場合には、圧倒的に小腸下部からの受動輸送の割合が高い。また、能動輸送では、カルシウム濃度が増加してもある量以上には増加しないのに対して、受動輸送の場合は、腸管内の可溶性カルシウム濃度が増加するのに伴って輸送能も高まることが知られている（Am. J. Physiol., 240, 32, 1981）。従って、腸管内の可溶性カルシウム濃度を増加することによって、カルシウムの吸収量を増加させれば良いことになる。即ち、カルシウムをはじめとするミネラルは、一般にイオン形態で吸収されるのに対し、実際の消化管内では、共存するリン酸や炭酸などと不溶性の塩を形成するために

吸収率が低下するので、これら不溶性の塩の形成を阻止すること、つまりカルシウム等のミネラルの可溶性を高めることによってミネラルの吸収率の増加を図ることができる。

【0004】従来、ミネラルを補強する方法として一般的に行われてきたのは、無機のミネラル粉末を食品に添加する方法である。しかし、この方法は共存する他の物質と不溶性の塩を作る可能性があり好ましくない。また、多量に1種のミネラルを摂取することは他のミネラルの吸収を阻害することにつながり、ミネラルの生体利用性はあまり改善されないという問題があった。

【0005】そこで、小腸下部での可溶性カルシウム濃度および可溶性鉄濃度を増加させることによりカルシウムおよび鉄の吸収促進効果を示す素材として、牛乳タンパク質のカゼインの酵素分解物であるカゼインホスホペプチド（CPP）が開発された（特開昭58-170440号公報、特開昭59-162843号公報）。CPPは、含有するホスホセリンのリン酸基、酸性アミノ酸のカルボキシル基によるキレート作用により、カルシウムや鉄を可溶化状態に保ち、小腸内の可溶性カルシウム濃度、可溶性鉄濃度を増加させることにより、吸収促進作用を有していると言われている。

【0006】しかし、CPPを工業的に生産するには酵素処理等の複雑な工程を経る必要性があり、しかも食品に添加した場合に、小腸に転送される過程で更に分解が進む可能性があるという問題がある。また、前駆体であるカゼインをそのまま食した場合でも、腸管内で酵素分解され自然にCPPが生成し、これによりミネラルの吸収が促進されるという見解もある。しかしながら、カゼインや大豆蛋白をはじめとする食品タンパク質をミネラル可溶化素材として活用しようとする場合、一般に酸性領域における溶解性が悪いことが課題となり、利用が制限されているのが現状である。特に、飲料に利用する場合、飲みやすくするため、炭酸、クエン酸等により酸性（pH3～5）にする場合が多く、該タンパク質の溶解性が重要な問題となることが多い。従って、全pH領域で高い溶解性を示し、かつミネラル可溶化能を有するタンパク質素材の製造が望まれている。

## 【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、タンパク質にミネラル可溶化能を付与すると共に、酸性領域を含めた全pH領域で高い溶解性を有するタンパク質を提供することである。

## 【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者は、上記課題を解決するために鋭意検討した結果、タンパク質分子中の芳香族アミノ酸残基をオゾン処理して酸化し、アスパラギン酸残基に変換することによって、タンパク質分子中に多くのカルボキシル基を導入し、高い溶解性を有するミネラル可溶化素材を製造することに成功した。即ち、

原料となるタンパク質水溶液にオゾンガスを通気すると、常温常圧下で酸化が進行し、高分子性が保たれたままタンパク質分子中の芳香族アミノ酸残基がアスパラギン酸残基に変換される。このようなオゾン処理による酸化は、反応装置が簡単で、目的とするタンパク質の大量生産が容易であり、しかも潜在的危険性のある試薬類を必要としない。また、芳香環開裂副産物は水溶性有機酸のみであるから、この物質を簡単に除去することができ、精製が非常に容易である。更に、オゾン処理タンパク質は、生成する多数のアスパギン酸残基のために、親水性が増し、溶解性が著しく増加すると共に、カルボキシル基がミネラルと結合し、ミネラルを可溶化することができる。更に、オゾン処理タンパク質がカルシウムとの結合能を有すると共に、増加したカルボキシル基のために溶解性が極めて向上し、消化管内でカルシウム等のミネラルを可溶性に保つ担体として優れたものとなると考えられた。そこで、種々検討の結果、カルシウムと不溶性塩を形成する主要因と考えられているリン酸存在下でも、オゾン処理タンパク質がカルシウムを可溶化すること及びオゾン処理によって形成される多くのアスパラギン酸残基の存在によって、該タンパク質の親水性が増加し、どのpH領域でも極めて溶解性の高いタンパク質素材となることを確認し、課題を解決するに至った。

【0009】即ち、請求項1記載の本発明は、オゾン処理したタンパク質を有効成分として含有するミネラル可溶化素材である。また、請求項2記載の本発明は、請求項1記載のミネラル可溶化素材を含有する飲料である。

【0010】

【発明の実施の形態】以下に本発明を詳述する。本発明に用いられるタンパク質は特に制限はなく、動物性、植物性のいずれでもよいが、通常食品分野において使用されるものが好ましい。例えば、大豆タンパク質やカゼインなどは好適なものである。また、オゾンは通常、オゾン発生機を用いて調製したものをを用いる。

【0011】本発明のミネラル可溶化素材であるオゾン処理タンパク質は、タンパク質をオゾンで処理して酸化することによって製造することができる。その製造法の1例を示すと、例えば、次のようにして行う。水、各種緩衝液、あるいは尿素をはじめとするタンパク質変性剤などを含む溶液でタンパク質を溶解または懸濁し、これにオゾンを吹き込む。オゾンを吹き込む前に、タンパク質の溶液または懸濁液のpHを6.0以上に調整することが好ましく、通常はpH6.0～8.0に調整する。次いで、オゾン発生機にて調製したオゾンを吹き込むが、通常は1～48時間程度通気すればよい。この場合、タンパク質中に存在する芳香族アミノ酸残基のすべてを酸化することが望ましい。タンパク質をオゾン処理した後、必要に応じて、水に対して透析するか、限外濾過、酸沈殿法等を用いて生成する水溶性有機酸等を除去する。次に、オゾン処理タンパク質を含む溶液から、濃

縮、凍結乾燥あるいは噴霧乾燥等により液状あるいは粉状のオゾン処理タンパク質素材を得る。

【0012】このようにして得られたオゾン処理タンパク質は、酸性領域からアルカリ性領域までの全pH領域で高い溶解性を示すと共に、優れたミネラル可溶化能を有している。従って、このオゾン処理タンパク質は乳製品、菓子類、スープ類、飲料、畜肉製品、水産練り製品等の飲食品、更には経腸栄養剤等の医薬品としても幅広く使用できる素材である。更に、芳香族アミノ酸がほとんど存在しないので、芳香族アミノ酸代謝異常症患者用の食品素材としても有効である。即ち、該オゾン処理タンパク質を含有する組成物の用途は特に問わないわけである。また、オゾン処理タンパク質自体、あるいは該オゾン処理タンパク質を含む組成物の形態は、液状、ゲル状、固状、粉粒状など様々な形態をとることができる。

【0013】本発明のミネラル可溶化素材、あるいは該素材を含有する組成物中におけるオゾン処理タンパク質の含有量は特に制限されることはないが、通常は組成物中にオゾン処理タンパク質が0.01～10重量%、好ましくは0.1～5重量%含まれるように配合することが好ましい。本発明のミネラル可溶化素材を各種飲料、食品、医薬、または化成品等にそのまま添加しても良いが、通常は1種もしくは2種類以上のカルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅等の生体必須ミネラルと共に添加することが望ましい。この場合、これらの生体必須ミネラルの添加量は、使用目的などを考慮して適宜決めればよい。

【0014】

【実施例】以下に実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらによって制限されるものではない。

実施例1

分離大豆タンパク質60gを8M尿素溶液2Lに溶解し、2N HClでpH6.0に調整した。次いで、この溶液1Lに、オゾン発生機にて調製したオゾンを100L/時間の通気流量で10時間通気した。この反応液を水に対して十分に透析したのち、凍結乾燥してオゾン処理大豆タンパク質を18g得た。得られたオゾン処理大豆タンパク質のアミノ酸分析を行った結果、図1に示すように、フェニルアラニンやチロシンのような芳香族アミノ酸残基が減少し、その代わりに、アスパラギン酸残基の量が増加していることが確認された。図中の白色棒は未処理大豆タンパク質の、黒色棒はオゾン処理大豆タンパク質の結果を示し、Aspはアスパラギン酸、Pheはフェニルアラニン、Tyrはチロシンをそれぞれ表す。また、上記反応液をカルシウム含有水溶液に対して透析後、凍結乾燥することにより、カルシウム結合タンパク質を調製した。このカルシウム結合タンパク質について原子吸光法によってカルシウム含量を測定すると、オゾン処理をしない分離大豆タンパク質のカルシウ

ム含量は0.241mg/gであるのに対して、オゾン処理大豆タンパク質は1g当たり13.8mgのカルシウムを含有しており、約60倍のカルシウム結合量を示した。

#### 【0015】実施例2

実施例1と同様にカゼイン60gを8M尿素溶液に溶解し、通気流量100L/時間でオゾンを10時間通気した。次いで、これを水に対して透析したのち、凍結乾燥してオゾン処理カゼインを24g得た。このオゾン処理カゼインは、アミノ酸分析の結果から、芳香族アミノ酸残基が消失し、アスパラギン酸残基の量が増加していることが確認された(図2)。なお、図中の表示、記号は図1と同じである。

#### 【0016】実施例3

未処理タンパク質と実施例1及び2で得たオゾン処理タンパク質を各々2、4、8、10、20、40mgとり、それぞれに2mlの100mMリン酸ナトリウム緩衝液(pH7.0)を添加し、よく攪拌した後、室温にて30分間放置した。次いで、これを遠心し、その上清のタンパク質濃度をBicinchoninic acid (BCA) 法(P.K. Smithら、Anal. Biochem., 150, 76-85, 1985)により測定し、オゾン処理前後の溶解度を比較した。その結果、図3及び4に示したように、実施例1及び2で調製したオゾン処理大豆タンパク質及びオゾン処理カゼインは共に、溶解度が大きく向上していることが分かった。図中の—○—はオゾン処理タンパク質の、—●—は未処理タンパク質の結果を示す。

#### 【0017】実施例4

所定のpH領域での各種タンパク質の溶解性を測定するために、6mgのタンパク質(未処理及びオゾン処理)にpH2~12のリン酸ナトリウム緩衝液を2mlずつ添加し、これを良く攪拌した後、室温にて30分間放置した。その後、これを遠心し、得られた上清のタンパク質濃度を前記BCA法により測定した。pH12でのタンパク質濃度を100として各pH値でのタンパク質溶解度を算出した。その結果、図5及び6に示したように、実施例1及び2で調製したオゾン処理大豆タンパク質及びオゾン処理カゼインは共に、オゾン処理前には溶解性が良くなかった酸性領域も含めて、全pH領域で高い溶解性を有していた。なお、図中の—●—はオゾン処理タンパク質の、—○—は未処理タンパク質の結果を示す。

#### 【0018】実施例5

タンパク質の最終濃度が0~1.5mg/mlとなるよ

うに5mg/mlの未処理タンパク質又はオゾン処理タンパク質の溶液、20mMリン酸緩衝液(pH8.0)及び5mM  $\text{CaCl}_2$  溶液を用いて、リン酸基/ $\text{Ca}^{2+}$ の比が2、4、8となる混合溶液900 $\mu\text{l}$ を調製した。次に、これを37℃で1時間インキュベートした後、遠心分離(3000rpm、20分間)し、上澄中のカルシウム濃度を測定した。その結果、図7及び8に示したように、実施例1及び2で調製したオゾン処理大豆蛋白及びオゾン処理カゼインは共に、未処理タンパク質に比して大きなカルシウム可溶化能を有していることが分かった。図中の—●—はオゾン処理タンパク質の、—○—は未処理タンパク質の結果を示す。

#### 【0019】

【発明の効果】本発明のオゾン処理タンパク質を有効成分とするミネラル可溶化素材は、全てのpH領域の溶液に対する溶解性が向上しており、かつ良好なミネラル可溶化能を有している。従って、この素材は各種食品や医薬品等に添加するのに適しており、健康増進、栄養補給等を目的とするタンパク質強化飲料等の食品や医薬品に大いに利用できるものである。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】 オゾン処理大豆タンパク質のアミノ酸分析結果を示す。

【図2】 オゾン処理カゼインのアミノ酸分析結果を示す。

【図3】 未処理大豆タンパク質とオゾン処理大豆タンパク質の溶解度を比較したものである。

【図4】 未処理カゼインとオゾン処理カゼインの溶解度を比較したものである。

【図5】 各種pH領域での未処理大豆タンパク質とオゾン処理大豆タンパク質の溶解度を比較したものである。

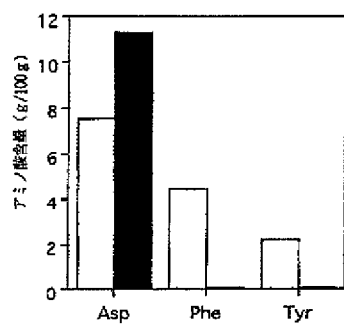
【図6】 各種pH領域での未処理カゼインとオゾン処理カゼインの溶解度を比較したものである。

【図7】 未処理大豆タンパク質とオゾン処理大豆タンパク質について、カルシウム可溶化能を比較したもので、(A)はリン酸基/ $\text{Ca}^{2+}$ の比が2のときを、(B)はリン酸基/ $\text{Ca}^{2+}$ の比が4のときを、(C)はリン酸基/ $\text{Ca}^{2+}$ の比が8のときをそれぞれ示す。

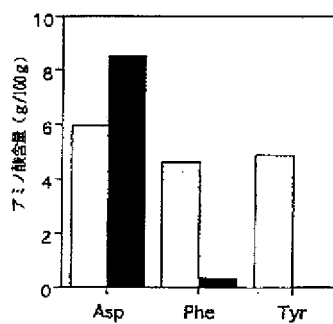
【図8】 未処理カゼインとオゾン処理カゼインについて、カルシウム可溶化能を比較したもので、(A)はリン酸基/ $\text{Ca}^{2+}$ の比が2のときを、(B)はリン酸基/ $\text{Ca}^{2+}$ の比が4のときを、(C)はリン酸基/ $\text{Ca}^{2+}$ の比が8のときをそれぞれ示す。

(5)

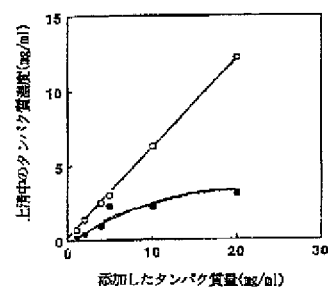
【図1】



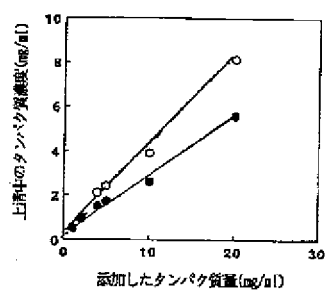
【図2】



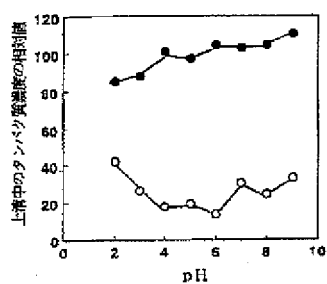
【図3】



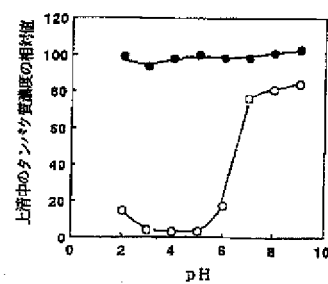
【図4】



【図5】

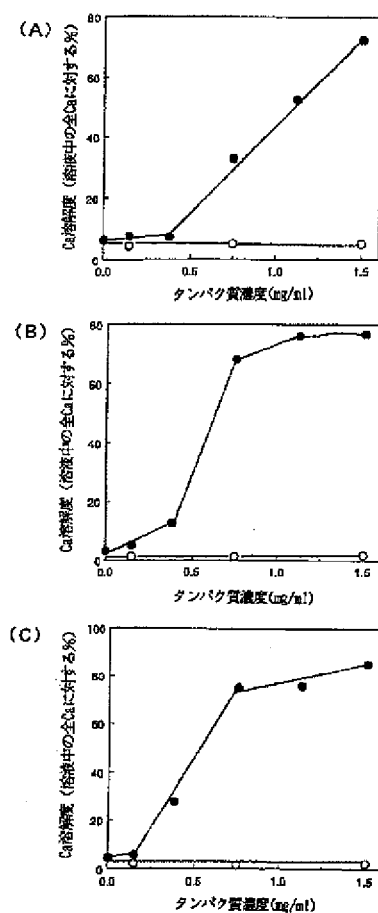


【図6】

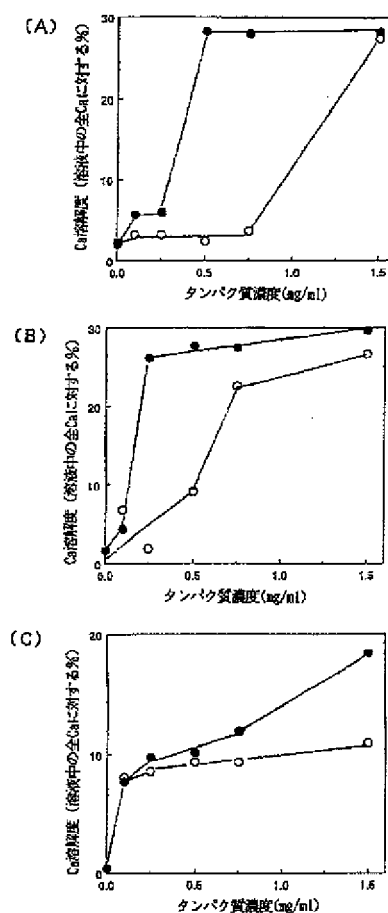


(6)

【図7】



【図8】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>6</sup>

A 2 3 L 2/38

識別記号

庁内整理番号

F I

A 2 3 L 2/00

技術表示箇所

F